103—107 16113(2)

动 物 学 研 究 1996, 17 (2): 103—107 CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research

猪肥大细胞的超微结构研究*

许乐仁 江 萍
(贵州农学院动物科学系 贵阳 550025)

S825.1

A **摘要** 对4头一月龄长白仔猪的肠粘膜肥大细胞(MMC)、粘膜下结缔组织肥大细胞(CTMC)及胸腺髓质肥大细胞(TMMC)进行了透射电镜观察。未发现它们之间存在超微结构的显著差异。猪肥大细胞的胞浆内含有大量大小比较一致的,圆形或卵圆形的有单位膜的胞浆颗粒。胞浆颗粒内充满无定形的颗粒状基质,基质的电子密度不同。在一些胞浆颗粒内可见1—2个低电子密度区位于中央或偏中央。根据颗粒基质电子密度的差异,将猪肥大细胞的胞浆颗粒分为3个类型:Ⅰ型颗粒为高电子密度的,占68.8%;Ⅱ型为中等电子密度的,占15.9%;Ⅲ型为低电子密度的,占15.4%。

关键词 肥大细胞,超微结构,猪

猪;

某些啮齿动物及人类的肥大细胞可被区分为两个亚群——多位于肠粘膜固有层及肺组织内的所谓粘膜肥大细胞(mucosal mast cells, MMC)及位于粘膜下结缔组织或其他器官结缔组织内的所谓结缔组织肥大细胞(connective tissue mast cells, CTMC)。这两个亚群肥大细胞的分化过程、形态特征、组织化学特性及生理功能等方面的异质性已成为肥大细胞生物学研究的焦点(Galli, 1990)。近年的研究发现,人类的MMC与CTMC存在着超微结构的显著差异性(Craig等, 1988, 1989; Weldner等, 1990)。

作者在前期工作中证实了猪的MMC及CTMC之间也存在着明显的组织化学及形态学异质性(Xu等, 1993)。本研究旨在阐明猪肥大细胞的超微结构特点及不同亚群的猪肥大细胞之间是否也存在超微结构的差异性。

1 材料与方法

本研究用4头一月龄长白仔猪。在全身麻醉情况下手术采取迴肠、结肠和胸腺为电镜检查材料。组织块(约1 mm^3)在3%(W/V)戊二醛溶液(用pH7.3的0.1 mol/L磷酸盐缓冲液配制)中4℃下固定过夜,经0.1 mol/L磷酸盐缓冲液浸洗后于1%锇酸溶液(0.1 mol/L磷酸盐缓冲液配制)室温中固定1.5 h。组织块经蒸馏水冲洗后在4℃暗环境中用1%乙酸双氧铀处理1 h,梯度甲醇和氧化丙烯脱水,树脂包埋,1 μm半薄切片经0.1%甲苯胺兰染色,光镜检查定位。选取合适的组织块超薄切片,醋酸铅染色10 min,菲立普EM300型透射电镜(Philips, Eindhoven, Holland)80 kV加速压下观察。

2 结果

在透射电镜下共观察了100个猪的肥大细胞,包括34个肠粘膜肥大细胞(MMC)、

---

* 国家自然科学基金及贵州省科学基金资助项目
本文1994年10月24日收到,1995年9月11日修回

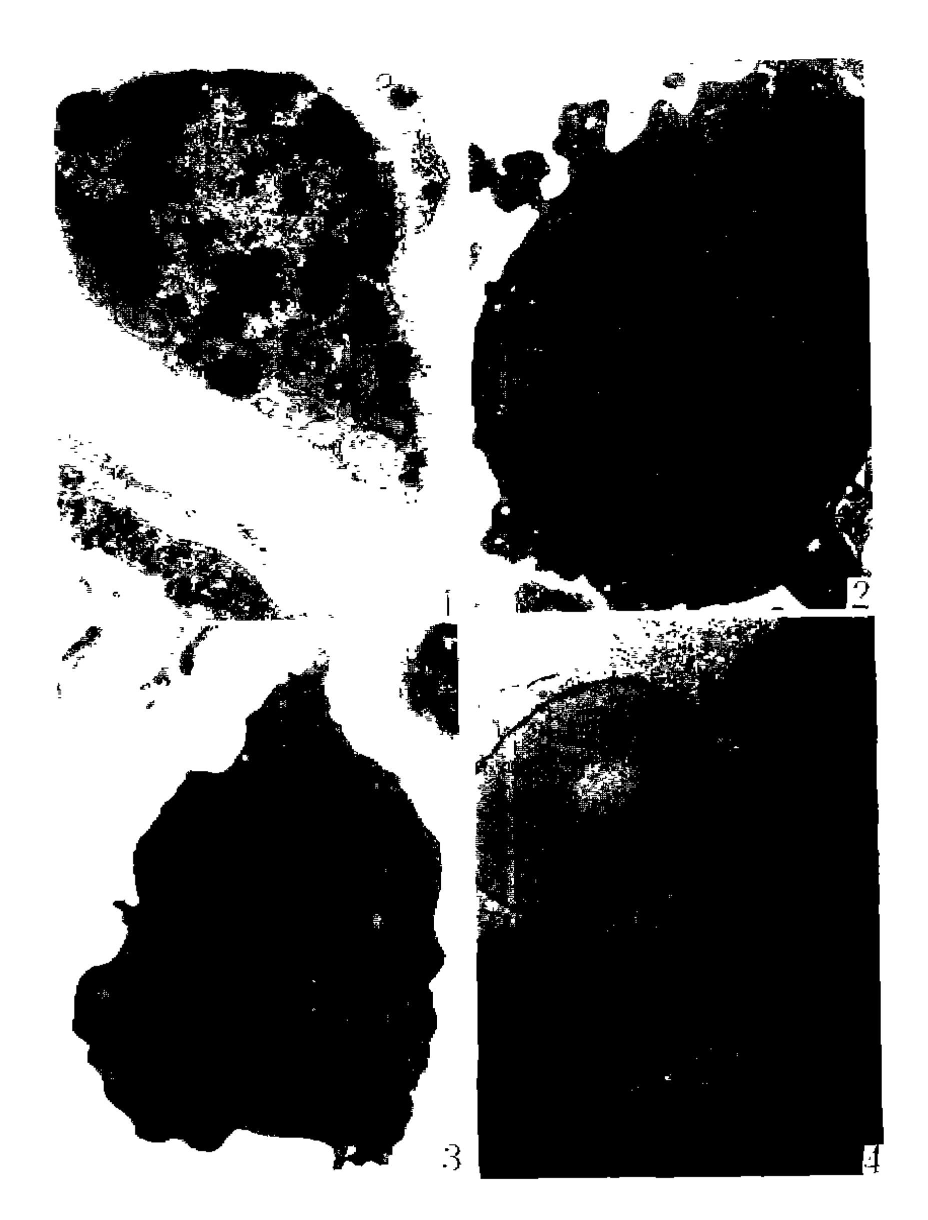


图 1—4 猪肥大细胞的超微结构

Fig 1-4 An Ultrastructure of porcine mast cells

1 回肠粘膜下血管外周结缔组织内的1个肥大细胞(CTMC)〔Transmission electron micrograph of a mast cell (CTMC) in perivascular connective tissue of ileal submucosa of a pig.〕×20 500

2. 回肠粘膜固有层内的1个肥大细胞(MMC)〔Transmission electron micrograph of a mast cell (MMC) in lamina propria of ileal mucosa of a pig.〕×20 500

3. 胸腺髓质内1个肥大细胞(TMMC)〔Transmission electron micrograph of a mast cell (TMMC) in thymic medulla of a pig.〕×20 500

4 胸腺髓质肥大细胞(TMMC)中胞浆颗粒. Ⅰ型, Ⅱ型及Ⅲ型颗粒中分别含有高电子密度、中等电子密度及低电子密度的无定形颗粒状基质〔Transmission electron micrograph of cytoplasmic granules of a mast cell (TMMC) in thymic medulla of a pig Note the type Ⅰ, TypeⅡ and TypeⅢ granules containing high, less high and low electron dense amorphous granular matrix, respectively〕×105 000

28个肠粘膜下结缔组织肥大细胞(CTMC)及38个胸腺髓质肥大细胞(TMMC)(图1—4)，未发现它们之间存在显著的超微结构差异，猪肥大细胞多为圆形、椭圆形或短梭形。细胞表面有少量细胞突起。细胞核位中央或偏中央。可见块状异染色质沿核膜内侧分布，偶见核仁。胞浆内除可见线粒体、高尔基氏复合体和内质网等细胞器外，可见大量特征性的胞浆颗粒。这些颗粒多呈圆形或卵圆形，有单位膜包裹(图1—4)。

猪肥大细胞的胞浆颗粒内充满均匀分布的无定形的细颗粒状基质。不同的胞浆颗粒其基质的电子密度有明显差异。根据胞浆颗粒内基质电子密度的差异，可将猪肥大细胞的胞浆颗粒区分为3个类型：Ⅰ型颗粒的基质电子密度较高、Ⅲ型颗粒的基质电子密度较低，而Ⅱ型颗粒的基质电子密度介于Ⅰ型和Ⅲ型之间(图1—4)。

根据对25个猪肥大细胞(8个MMC、5个CTMC及12个TMMC)内的共605个胞浆颗粒的类型分析统计(表1)，可见约2/3的胞浆颗粒为Ⅰ型颗粒，而Ⅱ型及Ⅲ型颗粒则分别占16%左右。在猪的MMC、CTMC及TMMC中，除了MMC的Ⅲ型颗粒显著多于CTMC及TMMC中的外($p<0.05$)，其余类型的胞浆颗粒所占的比例在不同群体肥大细胞间差异并不显著。

表1　猪肥大细胞胞浆颗粒的类型及其分布

Tab. 1　The types of the cytoplasmic granules in porcine mast cells and their distributions

肥大细胞群　体	肥大细胞观察数(n)	胞浆颗粒类型			合计(n)
		Ⅰ型 n(%)	Ⅱ型 n(%)	Ⅲ型 n(%)	
MMC	8	117(60.0)	33(16.9)	45(23.1)	195
CTMC	5	80(71.4)	18(16.1)	14(12.5)	112
TMMC	12	217(72.8)	45(15.1)	36(12.4)	298
合计	25	414(68.4)	96(15.9)	95(15.7)	605

另一个显著的发现是，在猪肥大细胞(包括MMC，CTMC及TMMC)的某些胞浆颗粒中，可见1—2个小的圆形的低电子密度区位颗粒的中央或偏中央(图1—4)。它们在Ⅰ型、Ⅱ型及Ⅲ型颗粒中的出现率分别为23.1%、11.5%及12.4%。

3　讨论

已有一些报道涉及到一些动物及人类肥大细胞超微结构的观察(Galli，1990；Craig等，1988，1989；Weldner等，1990；Chen等，1990；Hunt等，1991)，但尚未见有关猪肥大细胞超微结构的详细研究。在人类肥大细胞超微结构研究中，一个有意义的发现是不同亚群的肥大细胞不但在组织化学性质及光镜形态上具有表型差异，其异质性还可表现在电镜水平上。研究发现人类MMC的胞浆颗粒的亚结构以卷轴状(scroll)类型为主，而CTMC则以晶格状(crystalline)类型为主，这种差异的存在足以使人们有可能在电镜下鉴定两类型的人肥大细胞(Galli，1990；Craig等，1988，1989；Weldner等，1990)。

人类MMC及CTMC之间存在的超微结构差异性被认为可能与其胞浆颗粒内中性蛋白酶的组分差异有关。人类MMC胞浆颗粒内含有类胰蛋白酶(tryptase)，而CTMC中同时含有类胰蛋白酶及类糜蛋白酶(chymase)。Craig等(1988，1989)成功地应用免疫电镜技

术对人类这两个亚群的肥大细胞进行了超微结构分析。

与人类及啮齿动物肥大细胞相似的是，猪肥大细胞也存在着明显的组织化学及形态学异质性(Xu 等，1993)。主要表现为福尔马林固定可阻断猪肥大细胞，特别是 MMC 对碱性染料的着染力。由于 MMC 和 CTMC 胞浆颗粒中蛋白多糖的性质不同，因而对硫酸小蘖碱(berberine sulphate)萤光染色的反应性差异，以及细胞的大小及形态在光镜水平上的差异等(Xu 等，1993)。本研究通过对猪的 MMC、CTMC 及 TMMC 的透射电镜观察，并未发现它们之间存在显著的超微结构差异。猪肥大细胞的胞浆颗粒内充满比较一致的无定形颗粒状基质，但胞浆颗粒基质的电子密度有较大差异，部分颗粒内尚可见位于中央或偏中央的低电子密度区、既未发现人类肥大细胞胞浆颗粒内那些特殊的亚显微结构（卷轴状或晶格样结构)(Galli，1990；Craig 等，1988，1989；Weldner 等，1990)，也未发现在绵羊肥大细胞胞浆颗粒中可见的杆状、环状、旋涡状及指纹状等特殊结构(高登慧等，1995)，也不像啮齿动物肥大细胞那样胞浆颗粒的基质电子密度较高且比较一致。似可说明，①猪的肥大细胞没有明显的超微结构差异性、光镜水平下所见到的组织化学与形态学异质性与超微结构之间并不一定有必然的联系；②动物肥大细胞的超微结构存在着明显的种属间差异性。深入地研究与比较仍是必要的。

我们最近采用小鼠抗人类肥大细胞类胰蛋白酶单克隆抗体通过间接免疫过氧化物酶技术证实猪的肥大细胞中均含有类胰蛋白酶(Xu 等，1995)，过去的工作也曾用酶组织化学技术证实猪(Xu 等，1993)及绵羊(Xu，1992)的肥大细胞中类胰蛋白酶的存在但未能检出类糜蛋白酶。在本研究中、猪肥大细胞既不具备人类肥大细胞特征性的超微结构(Craig 等，1988，1989)也不具备绵羊肥大细胞的特殊亚显微结构(高登慧等，1995)。或许可以推论，人类或绵羊肥大细胞的特征性超微结构，并不一定与其内含的中性蛋白酶组分直接相关。

本研究将猪肥大细胞的胞浆颗粒区分为 3 种类型、完全是根据其基质的电子密度。猪肥大细胞内胞浆颗粒在电镜下基质电子密度的差异、是因为颗粒内含物质或量的差异，抑或是所谓“持续少量脱颗粒”(Piece-meal degranulation)所致(Dvorak，1991)，尚待进一步研究。这种脱颗粒的方式可见于受到某种抗原刺激的活化肥大细胞内(Dvorak，1991)。或许可以解释本研究中 MMC 中Ⅲ型颗粒比其他两型多的原因。因为 MMC 存在于更容易与抗原物质接触的解剖位置。

致谢 本研究前期工作在英国 AFRC 动物保健研究院 Compton 实验室进行，谨致谢意。

参 考 文 献

高登慧，许乐仁，王开功．1995．绵羊肥大细胞的超微结构研究．贵州农学院学报，14：1—6.

Chen W，Alley M R，Manktelow B W *et al*，1990．Mast cells in the bovine lower respiratory tract：morphology，density and distribution．*Br．Vet．J*．，146：425-436.

Craig S S，Schechter N M，Schwartz L B，1988．Ultrastructural analysis of human T and TC mast cells identified by immunoelectron microscopy．*Lab．Invest*．，58：682-691.

Craig S S, Schechter N M, Schwartz L B, 1989 Ultrastructural analysis of maturing human T and TC mast cells in situ *Lab. Invest.* , 60: 147-157.

Dvorak A M, 1991. Granules changes of human skin mast cells characteristic of piece-meal degranulation and associated with recovery during wound healing in situ *J Leuk. Biol.* , 49: 197-201.

Galli S J, 1990. New insights into "The riddle of the mast cell": Microenvironmental regulation of mast cell development and phenotypic heterogeneity. *Lab. Invest* , 62: 5-23

Hunt T C, Campbell A M, Robinson C *et al* , 1991. Structural and secretory characteristics of bovine lung and skin mast cells: evidence for existence of heterogeneity. *Clin. Experim. Allergy.* , 21: 173-182.

Weldner N, Austen K F, 1990. Evidence for morphologic diversity of human mast cells: An ultrastructural study of mast cells from multiple body sites. *Lab. Invest* , 63: 63-72.

Xu L R, 1992 Histochemical studies on ovine mast cells Bangkok: Proc. of VI AAAP Animal Science Congress. 115.

Xu L R, Carr M M, Bland A P *et al*, 1993. Histochemstry and morphology of porcine mast cells. *Histochem. J.* , 25: 516-522

Xu L R, Carr M M, Parsons K P *et al*, 1995. Identification of Porcine and bovine mast cells by an immunoperoxidase technique using murine monoclonal antibodies against human mast cell tryptase, Proc. of 4th International Veterinary Immunology Symposium, University of California, Davis. 184

AN ULTRASTRUCTURAL STUDY OF PORCINE MAST CELLS

Xu Leren Jiang Ping

(*Dept. of Animal Science, Guizhou Agricultural College, Guiyang, Guizhou , P R China* 550025)

Abstract

Mast cells in the intestinal mucosa (MMC), in the connective tissue of the intestinal submucosa (CTMC) and in the thymus medulla (TMMC) from four 1-month-old Large White pigs were observed under transmission electron microscopy. No evidence shows significant ultrastructural differences among porcine MMC. CTMC and TMMC. Porcine mast cells contained characteristic granules of uniform size, with a circular or oval outline and bounded by a unit membrane. The cytoplasmic granules contain amorphous granular material but the electron density of these matrix material varied from high to low. One or two lower dence cores were found in the center or eccenter of some granules. Based on electron density of the granule matrix, the granules could be classified into three types (Type Ⅰ, Ⅱ and Ⅲ). The Type Ⅰ, Ⅱ and Ⅲ granules contain high, less high and low electron dense amorphous granular matrix, respectively.

Key words Mast cell, Ultrastructure, Pig